



**SCHWEIZERISCHE EidGENOSSENSCHAFT
CONFÉDÉRATION SUISSE
CONFEDERAZIONE SVIZZERA**

jc549 U.S. PTO
09/198427
11/24/98

Bescheinigung

Die beiliegenden Akten stimmen mit den ursprünglichen technischen Unterlagen des auf der nächsten Seite bezeichneten Patentgesuches für die Schweiz und Liechtenstein überein. Die Schweiz und das Fürstentum Liechtenstein bilden ein einheitliches Schutzgebiet. Der Schutz kann deshalb nur für beide Länder gemeinsam beantragt werden.

Attestation

Les documents ci-joints sont conformes aux pièces techniques originales de la demande de brevet pour la Suisse et le Liechtenstein spécifiée à la page suivante. La Suisse et la Principauté de Liechtenstein constituent un territoire unitaire de protection. La protection ne peut donc être revendiquée que pour l'ensemble des deux Etats.

Attestazione

Gli uniti documenti sono conformi agli atti tecnici originali della domanda di brevetto per la Svizzera e il Liechtenstein specificata nella pagina seguente. La Svizzera e il Principato di Liechtenstein formano un unico territorio di protezione. La protezione può dunque essere rivendicata solamente per l'insieme dei due Stati.

Bern, - 8. Okt. 1998

Eidgenössisches Institut für Geistiges Eigentum
Institut Fédéral de la Propriété Intellectuelle
Istituto Federale della Proprietà Intellettuale

Patentverfahren
Administration des brevets
Amministrazione dei brevetti

U. Kohler



Patentgesuch Nr. 1997 2781/97

HINTERLEGUNGSBESCHEINIGUNG (Art. 46 Abs. 5 PatV)

Das Eidgenössische Institut für Geistiges Eigentum bescheinigt den Eingang des unten näher bezeichneten schweizerischen Patentgesuches.

Titel:
Verfahren zur Herstellung von einem Aminoalkohol.

Patentbewerber:
Lonza AG, Gampel/Wallis. Geschäftsleitung

4002 Basel

Anmelde datum: 03.12.1997

Voraussichtliche Klassen: C07C



Unveränderliches Exemplar

Exemplare Invariabile

Esempiere immutabile

L.P. 1769, Schweiz

Erstanmeldung

Patentgesuch Nr.

vom

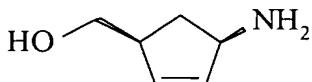
LONZA AG

Gampel / Wallis

(Geschäftsleitung: Basel)

Verfahren zur Herstellung von einem Aminoalkohol

Die vorliegende Erfindung betrifft ein neues Verfahren zur Herstellung von (1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten der Formel



I

5

(1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten der Formel I ist ein wichtiges Zwischenprodukt zur Herstellung von carbocyclischen Nukleosiden wie z. B. Carbovir® (Campbell et al., J. Org. Chem. 1995, 60, 4602 - 4616).

10 Ein Verfahren zur Herstellung von (1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten ist beispielsweise von Campbell et al. (ibid) und von Park K. H. & Rapoport H. (J. Org. Chem. 1994, 59, 394 - 399) beschrieben.

Bei diesem Verfahren dient als Edukt entweder D-glucon- δ -lacton oder D-Serin, wobei ca. 15 Synthesestufen bis zur Bildung von (1R,4S)-N-tert-Butoxycarbonyl-4-hydroxymethyl-2-cyclopenten, welches dann zum (1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten deprotektioniert wird, notwendig sind.

Diese beiden Verfahren sind kostspielig, umständlich und grosstechnisch nicht gangbar.

20 Die WO 93/17020 beschreibt ein Verfahren zur Herstellung von (1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten, wobei (1R,4S)-4-Amino-2-cyclopenten-1-carbonsäure mit Lithiumaluminiumhydrid ins gewünschte Produkt reduziert wird.

Nachteilig bei diesem Verfahren ist zum einen, dass auch die Doppelbindung des Cyclopentenringes reduziert wird, die schlechte Handhabbarkeit von Lithiumaluminiumhydrid und zum anderen, dass es zu kostspielig ist.

25

Taylor S. J. et al. (Tetrahedron: Asymmetry Vol. 4, No. 6, 1993, 1117 - 1128) beschreiben ein Verfahren zur Herstellung von (1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten ausgehend von (\pm)-2-Azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-on als Edukt. Dabei wird das Edukt mittels Mikroorganismen der Spezies Pseudomonas solanacearum oder Pseudomonas fluorescens in (1R,4S)-2-Azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-on überführt, welches dann mit Di-

tert-butyldicarbonat in das (1R,4S)-N-tert-butoxycarbonyl-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-on umgesetzt wird und letzteres mit Natriumborhydrid und Trifluoressigsäure ins gewünschte Produkt reduziert wird.

Dieses Verfahren ist viel zu kostspielig.

5

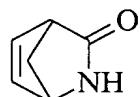
Des Weiteren beschreiben Martinez et al. (J. Org. Chem. 1996, 61, 7963 - 7966) eine 10stufige Synthese von (1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten ausgehend von Dialkylmalonsäurediethylester. Auch dieses Verfahren hat den Nachteil, dass es umständlich und grosstechnisch nicht gangbar ist.

10

Bekannt ist auch, dass man N-substituierte-(\pm)-2-Azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-one, welche einen elektronenanziehenden Substituenten tragen mit einem Metallhydrid zu den entsprechenden N-substituierten Aminoalkoholen reduzieren kann (Katagiri et al., Tetrahedron Letters, 1989, 30, 1645 - 1648; Taylor et al., ibid).

15

Im Gegensatz dazu ist bekannt, dass unsubstituiertes (\pm)-2-Azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-on der Formel



II

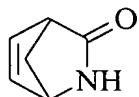
20

mit Lithiumaluminiumhydrid zu (\pm)-2-Azabicyclo[2.2.2]octen reduziert wird (Malpass & Tweedle, J. Chem. Soc., Perkin Trans 1, 1977, 874 - 884) und dass die direkte Reduktion von (\pm)-2-Azabicyclo[2.2.2]hept-5-en-3-on zum entsprechenden Aminoalkohol bislang als nicht möglich galt (Katagiri et al., ibid; Taylor et al., ibid).

25

Aufgabe der vorliegenden Erfindung war ein einfaches und kostengünstiges Verfahren zur Herstellung von (1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten zur Verfügung zu stellen.

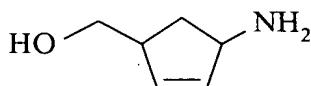
Überraschenderweise wurde nun gefunden, dass wenn man (\pm)-2-Azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-on der Formel



II

5

mit einem Metallborhydrid umsetzt, der Aminoalkohol der Formel



III

10 auf einfache Weise erhalten wird.

Das Edukt das (\pm)-2-Azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-on kann gemäss der EP-A 0 508 352 hergestellt werden.

15 Als Metallborhydride können Alkalimetall- oder Erdalkalimetallborhydride verwendet werden. Als Alkalimetallborhydrid kann NaBH_4 , LiBH_4 und KBH_4 und als Erdalkalimetallborhydrid kann $\text{Mg}(\text{BH}_4)_2$ und $\text{Ca}(\text{BH}_4)_2$ verwendet werden. Vorzugsweise wird LiBH_4 oder NaBH_4 mit Lithiumsalzzusätzen, insbesondere LiBH_4 , verwendet. Als Lithiumsalze können LiCl , LiBr , LiF , Li_2SO_4 , LiHSO_4 , Li_2CO_3 und LiHCO_3 verwendet werden.

20

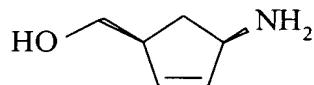
Zweckmässig wird die Umsetzung unter Inertgasatmosphäre wie beispielsweise unter Argon- oder Stickstoffatmosphäre durchgeführt.

25 Die Umsetzung kann bei einer Temperatur von 20 bis 200 °C, vorzugsweise bei einer Temperatur von 60 bis 150 °C, durchgeführt werden.

Als Lösungsmittel sind aprotische oder protische organische Lösungsmittel geeignet. Als aprotische organische Lösungsmittel können Ether oder Glykolether wie beispielsweise Diethylether, Dibutylether, Ethylmethylether, Diisopropylether, tert-Butylmethylether, Anisol, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glyme oder Diglyme eingesetzt werden. Als protische organische Lösungsmittel sind C₁₋₆-Alkohole wie Methanol, Ethanol, Propanol, Isopropanol, Butanol, Pentanol und Hexanol sowie Mischungen von diesen mit Wasser geeignet. Als protische Lösungsmittel ebenso geeignet sind Mischungen von einem der genannten Ether, Glykolether wie beispielsweise Dioxan, Tetrahydrofuran oder Glyme mit Wasser. Wird die Umsetzung in einem der genannten Alkohole mit oder ohne Wasser durchgeführt, kann in situ der entsprechende Aminosäureester gebildet werden.

Wird als Edukt (+)-2-Azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-on verwendet wird erfundungsgemäß der entsprechende (+)-Aminoalkohol gebildet. Wird als Edukt (-)-2-Azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-on verwendet, wird erfundungsgemäß dementsprechend der (-)-Aminoalkohol gebildet.

15 Der Aminoalkohol der Formel III wird dann auf biotechnologische Weise mittels einer Lipase oder Protease in das (1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten der Formel



II

20 umgesetzt.

Als Lipase können handelsübliche Lipasen verwendet werden wie beispielsweise:

Novo-Lipase SP523 aus Aspergillus oryzae (Novozym 398)

Novo-Lipase SP524 aus Aspergillus oryzae (Lipase = Palatase 20000L von Novo)

25 Novo-Lipase SP525 aus Candida antarctica (Lipase B Novozym 435, immobilisiert)

Novo-Lipase SP526 aus Candida antarctica (Lipase A = Novozym 735, immobilisiert)

Lipase-kitts von Fluka (1 & 2)

Amano P Lipase

Lipase aus Pseudomonas fluorescens; (Biocatalyst Ltd. Puder)

30 Lipase aus Pseudomonas sp. (Boehringer Mannheim; Lyophilisat)

Lipase aus *Candida cylindracea* (Biocatalysts Ltd.; Puder)

Lipase aus *Candida lipolytica* (Fluka; Lyophilisat)

Lipase aus *Mucor miehei* (Fluka)

Lipase aus *Aspergillus niger* (Fluka; Puder)

5 Lipase aus *Bacillus thermocatenulatus* (Boehringer Mannheim; Lyophilisat)

Lipase aus *Candida Antarctica* (Fluka)

Lipase AH (Amano; immobilisiert)

Lipase P (Nagase; Puder)

Lipase AY ("Amano 30 Lipase"; Puder)

10 Lipase G (Amano 50; Puder)

Lipase F (Amano F-AP15; Puder)

Lipase PS (Amano; Puder)

Lipase AH (Amano; Puder)

Lipase D (Amano; Puder)

15

Diese Lipasen können, wie fachmännisch bekannt, als zellfreie Enzymextrakte oder auch in der entsprechenden Mikroorganismenzelle angewendet werden.

Wie fachmännisch bekannt, können durch Lipase-katalysierte Acetylierungen optisch aktive

20 Amine gebildet werden (Balkenhohl et al., 1997, J. Prakt. Chem. 339, 381 - 384). Als Acetylierungsmittel für die genannte Umsetzung sind geeignet Methoxyessigsäureethylester, Methoxyessigsäureisopropylester, Essigsäurebutylester und Buttersäureethylester.

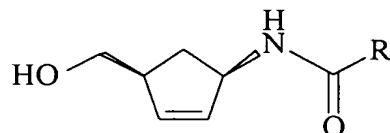
Zweckmäßig wird die Biotransformation bei einer Temperatur von 20 bis 40 °C und bei

25 einem pH von 4 bis 9 durchgeführt.

Die Biotransformation wird zweckmäßig in einem protischen oder aprotischen organischen Lösungsmittel durchgeführt. Als aprotische organische Lösungsmittel sind tert-

30 Butylmethylether, Dioxan, Tetrahydrofuran und Ethylacetat und als protische organische Lösungsmittel, die bereits beschriebenen C₁₋₆-Alkohole wie z. B. Pentanol geeignet.

Ein weiterer Bestandteil der vorliegenden Erfindung ist die Weiterumsetzung, die Acylierung, des (1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopentens zu einem (1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopentenderivat der allgemeinen Formel



IV

5

Der Rest R bedeutet C₁₋₄-Alkyl, C₁₋₄-Alkoxy, Aryl oder Aryloxy.

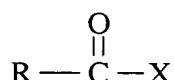
C₁₋₄-Alkyl kann substituiert oder unsubstituiert sein. Unter substituiertem C₁₋₄-Alkyl wird im
10 folgenden mit einem Halogenatom substituiertes C₁₋₄-Alkyl verstanden. Als Halogenatom kann F, Cl, Br oder J angewendet werden. Beispiele für C₁₋₄-Alkyl sind Methyl, Ethyl, Propyl, Butyl, Isobutyl, tert. Butyl, Isopropyl, Chlormethyl, Brommethyl, Dichlormethyl, Dibrommethyl. Vorzugsweise wird als C₁₋₄-Alkyl Methyl, Ethyl, Propyl, Butyl, Isobutyl oder Chlormethyl verwendet.

15

Als C₁₋₄-Alkoxy kann beispielsweise Methoxy, Ethoxy, Propoxy, Butoxy, tert. Butoxy oder Isobutoxy verwendet werden. Vorzugsweise wird als C₁₋₄-Alkoxy tert. Butoxy verwendet.

Als Aryl kann beispielsweise Phenyl oder Benzyl, substituiert oder unsubstituiert, verwendet werden. Als Aryloxy kann beispielsweise Benzyloxy oder Phenoxy, substituiert oder unsubstituiert, verwendet werden.

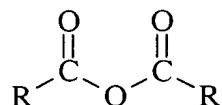
Die Acylierung kann mit einem Carbonsäurehalogenid der allgemeinen Formel



V

25

worin X ein Halogenatom bedeutet und R die genannte Bedeutung hat oder mit einem Carbonsäureanhydrid der allgemeinen Formel



VI

worin R die genannte Bedeutung hat, durchgeführt werden.

5

Als Halogenatom X können F, Cl, Br oder I verwendet werden. Vorzugsweise wird Cl oder F verwendet.

Beispiele für Carbonsäurehalogene sind: Acetylchlorid, Chloracetylchlorid, Buttersäurechlorid, Isobuttersäurechlorid, Phenylsäurechlorid, Chlorameisensäurebenzylester (Cbz-Cl), Propionsäurechlorid, Benzoylchlorid, Chlorameisensäurealkylester oder tert-Butyloxy-carbonylfluorid. Beispiele für Carbonsäureanhydride sind: tert-Butoxycarbonylanhydrid, Buttersäureanhydrid, Essigsäureanhydrid oder Propionsäureanhydrid. Vorzugsweise wird die Acylierung mit einem Carbonsäureanhydrid, insbesondere mit tert-Butoxycarbonylanhydrid 15 durchgeführt.

Die Acylierung kann ohne Lösungsmittel oder mit einem aprotischen organischen Lösungsmittel durchgeführt werden. Zweckmäßig wird die Acylierung in einem aprotischen organischen Lösungsmittel durchgeführt. Als aprotisches organisches Lösungsmittel sind 20 beispielsweise Pyridin, Acetonitril, Dimethylformamid, Diisopropylether, Tetrahydrofuran, Toluol, Methylenchlorid, N-Methylpyrrolidon, Triethylamin, Chloroform, Essigsäureethylester, Essigsäureanhydrid bzw. Mischungen von diesen geeignet.

Zweckmäßig wird die Acylierung bei einer Temperatur von -20 bis 100 °C, vorzugsweise 25 von 0 bis 80 °C, durchgeführt.

Beispiel 1:**Herstellung von cis-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten**

Eine Suspension von (\pm)-2-Azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-on (10,00 g, 91,6 mmol) und Lithiumborhydrid (4,00 g, 183,7 mmol) in trockenem Dioxan (100 ml) wurde unter Inertgasatmosphäre (Argon) 4 h bei 110 °C unter Rückflusstemperatur erhitzt. Nach dieser Zeit waren ca. 20 - 25 % des Eduktes zum Produkt umgesetzt (GC-Analyse mit internem Standard Benzophenon nach Aufarbeitung des Reaktionsgemisches; Aufarbeitung: 0,05 ml des Reaktionsgemisches wurden mit 0,1 ml 1M HCl gequencht und direkt im Anschluss mit 0,2 ml 1M NaOH basisch gestellt).

Der Strukturnachweis des Produktes erfolgte durch H-NMR, GC und GC-MS.

Beispiel 2:**Herstellung von (1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten**

25 mM Aminoalkohol (freie Base) wurden mit 1000 Units Novozym 435 in 5 ml Dioxan bei Raumtemperatur suspendiert. 25 mM Methoxyessigsäureethylester wurden als Acetylierungsmittel zugesetzt.

Die Bildung vom Produkt N-methoxyacetylaminolalkohol konnte mit DC eindeutig nachgewiesen werden. Der Umsatz betrug 50 % (nach Schätzung des DC).

Beispiel 3:**Herstellung von (1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten**

50 mM Aminoalkoholhydrochlorid wurden mit 1000 Units Novenzym 435 in 5 ml Tetrahydrofuran suspendiert. Dieses wurde mit 50 mM NaOH und 50 mM Methoxyessigsäureethylester versetzt und bei 30 °C inkubiert. N-Methoxyacetylaminolalkohol konnte mit DC nachgewiesen werden. Der geschätzte Umsatz betrug 50 %.

Beispiel 4:

Herstellung von (1R,4S)-N-BOC-1-amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten
(BOC = tert-Butoxycarbonyl)

5 75 g einer Lösung von (1R,4S)-1-Amino-4-hydroxymethyl-2-cyclopenten wurde mit 30 %igen NaOH auf pH 8 gestellt und mit 6 g NaHCO₃ versetzt. Das Gemisch wurde auf 52 °C erwärmt. Unter guter Rührung wurde dazu 60 ml Diisopropylether zugegeben und dann während 2 h eine Lösung von 11,12 g BOC-Anhydrid in 18,2 ml Diisopropylether zudosiert. Die Mischung wurde über Celite filtriert und die Phasen getrennt. Die Wasserphase wurde mit 10 65 ml Diisopropylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 45 ml Wasser gewaschen, dann auf 37,5 g eingedampft und auf 50 °C erwärmt. Zu der Lösung wurde 31 ml n-Hexan zugetropft. Nach langsamer Kühlung auf 0 °C (2 h), wurde die Titelverbindung filtriert, mit 12 ml n-Hexan / Diisopropylether 1/1 gewaschen und getrocknet. Man erhielt 6,75 g Produkt. Die Ausbeute betrug 71 %.

15

Beispiel 5:

Herstellung von (1R,4S)-N-acetyl-1-amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten

20 25 g (1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten-hydrochlorid wurden in 182 ml Essigsäureanhydrid gelöst und bei 0 °C mit einer Lösung von 18,25 Triethylamin in 60 ml Essigsäureanhydrid versetzt. Die Mischung wurde bei 80 °C 3 h gerührt, dann auf Raumtemperatur abgekühlt. Das Triethylaminhydrochlorid wurde abfiltriert und mit 120 ml n-Hexan gewaschen. Das Filtrat wurde eingedampft. Der Rückstand wurde mit 300 ml Toluol versetzt und bei Raumtemperatur in Gegenwart von 5,2 g Aktivkohle und 13 g Celite 20 Min. gerührt. Nach Filtration und Waschen des Filterkuchens (3mal 40 ml Toluol), wurde das Lösungsmittel vollständig eingeengt. Der Rückstand wurde mit 180 ml Methanol und 15,5 g K₂CO₃ versetzt und bei Raumtemperatur 10 h gerührt. Die Suspension wurde abfiltriert und das Filtrat eingedampft. Der Rückstand wurde in 750 ml Isopropylacetat suspendiert und in 25 Gegenwart von 0,5 g Aktivkohle auf Rückfluss 1,5 h abgekocht. Nach der Aktivkohle-Filtration (70 - 80 °C) wurde das Filtrat über Nacht bei 0 °C gekühlt. Die Titelverbindung

30

wurde filtriert, mit 80 ml kalten Isopropylacetat gewaschen und unter Vakuum getrocknet. Man erhielt 17,2 g Produkt. Die Ausbeute betrug 66 %.

5 **Beispiel 6:**

Herstellung von (1R,4S)-N-butyryl-1-amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten

34,7 g (1R,4S)-1-Amino-4-hydroxymethyl-2-cyclopenten-hydrochlorid und 2 g N,N-4-Dimethylaminopyridin wurden in 600 ml Methylenchlorid gelöst. Die Lösung wurde auf 0 °C gekühlt. Dann wurden 52 g Triethylamin zugetropft (5 Min.). Das Gemisch wurde noch 30 Min. weitergerührt. Zu der Mischung wurde bei 0 °C eine Lösung von 35,2 g Butyrylchlorid in 60 ml Methylenchlorid während 1 h zudosiert. Das Gemisch wurde noch zwischen 0 bis 20 °C 1,5 h weitergerührt, dann mit 600 ml Wasser versetzt. Nach Phasentrennung wurde die Wasserphase mit 600 ml Methylenchlorid extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden 3mal mit je 500 ml 10 %iger NaOH gewaschen, dann vollständig eingedampft. Der getrocknete Feststoff wurde in 120 ml Methanol gelöst. Die Lösung wurde mit 5 g K₂CO₃ versetzt und bei Raumtemperatur 2 h weitergerührt. Die anorganischen Salze wurden abfiltriert und mit 20 ml Methanol gespült. Das Filtrat wurde mit 2N HCl neutralisiert. Die Suspension wurde abfiltriert und der Filterkuchen mit 20 ml Methanol gewaschen. Das Filtrat wurde vollständig eingedampft. Der feste Rückstand wurde getrocknet und in 150 ml Toluol kristallisiert. Man erhielt 28,5 g Titelverbindung. Die Ausbeute betrug 67 %.

25 **Beispiel 7:**

Herstellung von (+)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten

In einem 25 ml Rundkolben (Rückflusskühler, Inertgasatmosphäre, Feuchtigkeitsausschluss, Thermometer) mit magnetischer Rührung werden 1,0 g (9,2 mmol) (+)-2-Azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-on und 0,4 g (18,4 mmol) Lithiumborhydrid in 10 ml Dioxan vorgelegt und 3 h bei 110 °C refluxiert. Überschüssiges Reduktionsmittel wurde durch Zugabe von ca. 5 ml halbkonzentrierter HCl vernichtet (auf pH 3 gestellt). Sofort im

Anschluss daran wurde durch Zugabe von ca. 1 ml gesättigter NaHCO₃ Lösung bei pH 8 gepufferet. GC Analyse zeigte hier die Bildung des Produktes. Das gesamte Reaktionsgemisch wurde nun zur Trockene eingedampft und mittels Säulenchromatographie (Gradient: Hexan/Essigester/MeOH = 1:1:1 -> MeOH) gereinigt. Auf diese Weise wurde (+)-2-Azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-on und der entsprechende (+)-Aminoalkohol gewonnen.

Beispiel 8:

Herstellung von (-)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten

In einem 25 ml Rundkolben (Rückflusskühler, Inertgasatmosphäre, Feuchtigkeitsausschluss, Thermometer) mit magnetischer Rührung wurden 1,0 g (9,2 mmol) (-)-2-Azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-on und 0,4 g (18,4 mmol) Lithiumborhydrid in 10 ml Dioxan vorgelegt und 3 h bei 110 °C refluxiert. Überschüssiges Reduktionsmittel wurde durch Zugabe von ca. 5 ml halbkonzentrierter HCl vernichtet (auf pH 3 gestellt). Sofort im Anschluss daran wurde durch Zugabe von ca. 1 ml gesättigter NaHCO₃ Lösung bei pH 8 gepufferet. GC Analyse zeigte hier die Bildung des Produktes in 18 %iger Ausbeute an. (GC-Standard ist Benzophenon). Das gesamte Reaktionsgemisch wurde nun zur Trockene eingedampft und mittels Säulenchromatographie (Gradient: Hexan/Essigester/MeOH = 1:1:1 -> MeOH) gereinigt. Auf diese Weise wurde 0,43g (43 %) (-)-2-Azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-on reisoliert sowie 0,04g (4 %) entsprechender (-)-Aminoalkohol gewonnen. Durch HPLC war nur das (-)-Enantiomer des Aminoalkohols detektierbar. Der ee des Produktes ist somit >98 %.

25

Beispiel 9:

Herstellung von (\pm)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten in einem Alkohol

In einem 100 ml Rundkolben (Rückflusskühler, Inertgasatmosphäre, Feuchtigkeitsausschluss, Thermometer) mit magnetischer Rührung wurden 3,0 (27,5 mmol) (\pm)-2-Azabicyclo[2.2.1]-

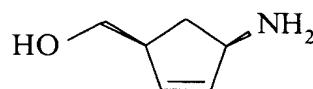
hept-5-en-3-on und 1,2 g (28,3 mmol) Lithiumborhydrid in 35 g 2-Butanol vorgelegt und 3 h bei 60 °C gerührt.

GC-Analyse eines Musters (Aufarbeitung: 0,1 g Probe mit 0,2 ml 1M HCl sauergestellt, dann mit 0,1 ml gesättigte NaHCO₃ rasch basisch gestellt) zeigte nach dieser Zeit die Bildung des Produktes in 12 %iger Ausbeute an. (GC-Standard ist Benophenon)

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung von (1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten der Formel

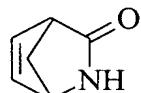
5



I

dadurch gekennzeichnet, dass man in einer ersten Stufe (\pm)-2-Azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-on der Formel

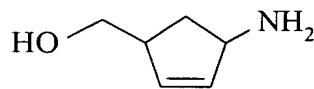
10



II

mit einem Metallborhydrid in einen Aminoalkohol der Formel

15



III

reduziert und diesen in einer zweiten Stufe biotechnologisch mittels einer Lipase oder Protease in das Endprodukt gemäss Formel I umsetzt.

20 2. Verfahren nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man die Reduktion in der ersten Stufe unter Inertgasatmosphäre durchführt.

3. Verfahren nach Patentanspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass man die Reduktion in der ersten Stufe bei einer Temperatur von 20 bis 200 °C durchführt.

25

4. Verfahren nach mindestens einem der Patentansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass man die Reduktion in der ersten Stufe in einem aprotischen oder protischen organischen Lösungsmittel durchführt.

5. Verfahren nach Patentanspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass man als aprotisches organisches Lösungsmittel einen Ether oder Glykolether und als protisches organisches Lösungsmittel einen C₁₋₆-Alkohol verwendet.

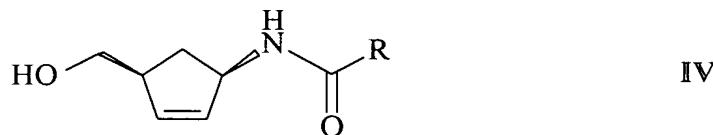
6. Verfahren nach mindestens einem der Patentansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass man die Biotransformation in der zweiten Stufe mittels einer Lipase durchführt.

10

7. Verfahren nach mindestens einem der Patentansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass man die Biotransformation in der zweiten Stufe bei einer Temperatur von 20 bis 40 °C und bei einem pH von 4 bis 9 durchführt.

15

8. Verfahren zur Herstellung von einem (1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopentenderivat der allgemeinen Formel



20

worin R C₁₋₄-Alkyl, C₁₋₄-Alkoxy, Aryl oder Aryloxy bedeutet, dadurch gekennzeichnet, dass man in einer ersten Stufe (\pm)-2-Azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-on der Formel



25

mit einem Metallborhydrid in einen Aminoalkohol der Formel



5 reduziert, diesen in einer zweiten Stufe biotechnologisch mittels einer Lipase oder Protease in das (1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl) der Formel I umsetzt und letzteres ins Produkt der Formel IV acyliert.

9. Verfahren zur Herstellung von einem Aminoalkohol der Formel

10



in Form des Racemats oder eines seine optisch aktiven Isomere, dadurch gekennzeichnet, dass man ein 2-Azabicyclo[2.2.1]-hept-5-en-3-on der Formel

15



in Form des Racemats oder eines seiner optisch aktiven Isomere mit einem Metallborhydrid in den Aminoalkohol der Formel III reduziert.

20

10. Verfahren zur Herstellung von (1R,4S)-1-Amino-4-(hydroxymethyl)-2-cyclopenten der Formel

25



dadurch gekennzeichnet, dass man einen Aminoalkohol der Formel

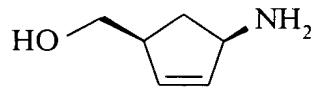


5

biotechnologisch mittels einer Lipase oder Protease in das Endprodukt gemäss Formel I umsetzt.

Zusammenfassung:

Beschrieben wird ein neues Verfahren zur Herstellung von (1R,4S)-1-Amino-4-
 5 (hydroxymethyl)-2-cyclopenten der Formel

**I**

ausgehend von (\pm)-2-Azabicyclo[2.2.1]hept-5-en-3-on der Formel

10

**II**

mit einem Metallborhydrid ins Produkt der Formel I reduziert wird.

15

20

25

Basel, 3. Dezember 1997

FREP / Dr. G. Schillinger / jf